基于线粒体细胞色素氧化酶I(COI)序列的猪和兔四个疥螨分离株的系统发育关系分析

古小彬[1]，杨光友[1,*]，赖松家[2]，王　帅[1]

(1. 四川农业大学动物医学院，四川雅安　625014；2. 四川农业大学动物科技学院，四川雅安　625014)

摘要：为了探讨兔疥螨分离株和猪疥螨分离株的分类地位，采用PCR技术首次扩增了分离自中国猪和兔的4个疥螨分离株的线粒体细胞色素氧化酶I(COI)基因，并与GenBank中注册的14个国外疥螨分离株的同源基因进行了比较。序列分析结果显示：扩增的4个疥螨株COI基因长度均为1 427 bp，序列间无插入、缺失，A+T含量(73%)明显高于G+C含量(27%)，碱基组成存在明显偏移。猪和兔的4个疥螨分离株间的COI基因同源性较高(99.1%～100.0%)，它们与澳大利亚人疥螨株、国外动物疥螨株的同源性范围为98.4%～99.6%。在构建的NJ树中，分离自中国猪和兔的4个疥螨分离株同澳大利亚人疥螨分离株、国外动物疥螨分离株亲缘关系较近。根据疥螨COI基因同源性分析和系统树构建结果，我们认为分离自中国猪和兔的4个疥螨分离株与澳大利亚人疥螨分离株以及国外的动物疥螨分离株均应属于同一个种。

关键词：疥螨；兔；猪；线粒体细胞色素氧化酶I(COI)；序列分析；系统发育分析；中国

中图分类号：S851　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2009)04-0465-08

Phylogenetic relationships among four *Sarcoptes* isolates from rabbits and swine in China based on the mitochondrial COI gene sequences

GU Xiao-Bin[1], YANG Guang-You[1,*], LAI Song-Jia[2], WANG Shuai[1] (1. College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China; 2. College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China)

Abstract: To clarify the taxonomic status of four *Sarcoptes* isolates from rabbits and swine in China, the cytochrome oxidase subunit I (COI) gene from these specimens was sequenced and compared with the homologous genes of other fourteen *Sarcoptes* isolates from other countries deposited in GenBank. The results of sequence analysis indicated that the lengths of COI genes in the four *Sarcoptes* isolates were all 1 427 bp. There was no insert or deletion. The base composition was obviously A + T biased, averaging 73%. Homology analysis indicated that the identity levels of nucleotide of COI genes among the four isolates from China ranged from 99.1% to 100.0%, while the homology of COI gene between the *Sarcoptes* isolated from China and the *Sarcoptes* isolates from human in Australia and those from other animals abroad ranged from 98.4% to 99.6%. The phylogenetic analysis showed that the relationships among *Sarcoptes* isolates from China and the *Sarcoptes* isolates from human in Australia and other animals abroad were close. Homology and phylogenetic analysis indicated that the *Sarcoptes* isolates from China and the *Sarcoptes* isolates from human in Australia and other animals abroad are conspecific.

Key words: *Sarcoptes*; rabbit; swine; cytochrome oxidase subunit I (COI); sequence analysis; phylogenetic analysis; China

疥螨是蛛形纲，蜱螨亚纲，真螨目，疥螨科(Sarcoptidae)，疥螨属 *Sarcoptes* 的螨类，寄生于人和其他哺乳动物皮肤表皮内，引起以剧痒、结痂、脱毛和皮肤肥厚等为特征的一类接触、传染性皮肤病。疥螨病是一种世界性的人兽共患病，除危害人类外，还可危害兔、马、绵羊、山羊和猪等家畜及红狐、小熊猫和苏门羚等多种野生动物(曾智勇等，2004)。

基金项目：四川省学术和科技带头人培养基金项目(SZ0082)

作者简介：古小彬，1982年生，女，四川自贡人，博士研究生，研究方向动物寄生虫病学，Tel：0835-2885271；E-mail：guxiaobin198225@126.com

*通讯作者 Author for correspondence, Tel.: 0835-2885994; E-mail: guangyou1963@yahoo.com.cn

收稿日期 Received: 2008-10-15；接受日期 Accepted: 2008-12-31

近几十年来，国外学者对疥螨及其引起的疾病进行了大量研究，其研究内容涉及到疥螨的分子分类学和免疫学等方面。但到目前为止，我国学者的研究主要集中在疥螨的基本形态描述、流行病学及药物的防治方面，仅我们对猪和兔疥螨分离株的ITS-2基因进行了分析(Gu and Yang, 2008)。疥螨的宿主种类较多，且地理分布广泛，受环境因素的影响，使螨虫的形态和生物学特性发生了一定的遗传变异，因此采用传统的分类学方法难以将不同宿主和不同地理来源的疥螨虫株进行分类。随着分子生物学技术的发展，DNA技术在国内外已广泛应用于各种生物的分类学研究。线粒体基因作为一种快速进化的分子标记基因，已成为研究生物进化的重要材料。在被广泛研究的线粒体基因中，COI也已经成为很多昆虫系统学研究的标准(Lunt *et al.*, 1996)。为此，我们开展了4个疥螨分离株的COI基因片段的扩增与序列分析研究，为疥螨属螨虫的分类提供分子佐证。

1　材料和方法

1.1　样品采集及基因组DNA提取

4个疥螨虫株采自我国四川和重庆地区(表1)。用钝刀从每种动物体表刮取痂皮，将痂皮放入培养皿内置于37℃温箱中1.5~2 h，收集皮屑中的疥螨，经形态学鉴定确认后，-70℃保存。此外，我们选取了GenBank中登录的寄生于同一地区的不同宿主以及不同地区的同一宿主的疥螨分离株的14条COI序列进行比较分析(表1)。

表1　来自GenBank的动物寄生疥螨的COI基因序列

Table 1　Some COI sequences of *Sarcoptess* isolates from GenBank

分离株 Isolate	种名 Species	宿主 Host	样品采集地 Locality	GenBank登录号 GenBank accession no.	来源 Origins
C1	*Sarcoptes* sp.	兔 Rabbit	雅安 Ya'an, China	EU256386	本文测定 This study
C2	*Sarcoptes* sp.	猪 Swine	荥经 Yingjing, China	EU256387	本文测定 This study
C3	*Sarcoptes* sp.	兔 Rabbit	永川 Yongchuan, China	EU256388	本文测定 This study
C4	*Sarcoptes* sp.	兔 Rabbit	自贡 Zigong, China	EU256389	本文测定 This study
Pa1	*Sarcoptes* sp.	人 Human	巴拿马 Panama	AY493379	Walton *et al.*, 2004
Pa2	*Sarcoptes* sp.	人 Human	巴拿马 Panama	AY493380	Walton *et al.*, 2004
Pa3	*Sarcoptes* sp.	人 Human	巴拿马 Panama	AY493381	Walton *et al.*, 2004
Au1	*Sarcoptes* sp.	人 Human	澳大利亚 Australia	AY493382	Walton *et al.*, 2004
Au2	*Sarcoptes* sp.	人 Human	澳大利亚 Australia	AY493383	Walton *et al.*, 2004
Au3	*Sarcoptes* sp.	人 Human	澳大利亚 Australia	AY493384	Walton *et al.*, 2004
Au4	*Sarcoptes* sp.	犬 Dog	澳大利亚 Australia	AY493391	Walton *et al.*, 2004
Au5	*Sarcoptes* sp.	犬 Dog	澳大利亚 Australia	AY493392	Walton *et al.*, 2004
Us1	*Sarcoptes* sp.	犬 Dog	美国 USA	AY493393	Walton *et al.*, 2004
Us2	*Sarcoptes* sp.	犬 Dog	美国 USA	AY493394	Walton *et al.*, 2004
Us3	*Sarcoptes* sp.	犬 Dog	美国 USA	AY493395	Walton *et al.*, 2004
Ta	*Sarcoptes* sp.	黑猩猩 Chimpanzee	坦桑尼亚 Tanzania	AY493396	Walton *et al.*, 2004
Au6	*Sarcoptes* sp.	袋熊 Wombat	澳大利亚 Australia	AY493397	Walton *et al.*, 2004
Au7	*Sarcoptes* sp.	小袋鼠 Wallaby	澳大利亚 Australia	AY493398	Walton *et al.*, 2004

1.2　疥螨基因组DNA的提取

DNA提取过程参照Zahler等(1999)提取疥螨基因组DNA的方法，稍加改进。从-70℃取出约300头疥螨置于预冷研钵中，充分研磨，将虫体粉末悬浮于400 μL裂解液[50 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0), 1 mmol/L EDTA, 0.5% SDS, pH 8.5]、10 μL 10 mg/mL蛋白酶K中，混匀后置于56℃保温3 h。依次用等体积的Tris饱和酚、酚、氯仿/异戊

醇进行提取，收集上清液，加入 2 倍体积的预冷无水乙醇，混匀后置于 −20℃ 3 h，12 000 r/min 离心 5 min，用 70% 乙醇洗涤 1 次，37℃ 干燥后，加入 30 μL TE(pH 8.0)室温溶解 DNA。DNA 于 −20℃ 保存备用。

1.3　COI 片段序列的扩增、纯化及序列测定

参考 Walton 等(2004)的文献设计第 1 对扩增引物 P_1：CytoF，5′-AAGATTTATTGTACCATTAGA-3′；CytoR，5′-ATTTTTATATCAACATTTA-3′；参考 Folmer 等(1994)的文献，根据后生无脊椎动物 COI 基因保守区域序列设计第 2 对扩增引物 P_2：COF14，5′-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3′；COR722，5′-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATC-3′。引物序列由上海生物工程有限公司合成。PCR 的反应条件为：94℃ 预变性 3 min；94℃ 变性 1 min，42℃ 退火 30 s，72℃ 延伸 1 min，30 个循环；最后 72℃ 延伸 10 min。使用柱式 DNA 胶回收试剂盒进行 DNA 的回收纯化，回收产物送上海英俊生物有限公司测序。

1.4　数据分析处理

以蜱螨目的微小牛蜱(GenBank 登录号：AH007623)作为系统发育分析的外类群。所有序列使用 BioEdit(Version 6.0.7)进行人工辅助校对，再分别利用 DNAMAN5.0 及 MegAlign 软件进行同源性比较，MEGA 2.1 软件进行物种间系统发育 NJ 树的构建，并进行重复 1 000 次的自举检验(bootstrap test)。

2　结果与分析

2.1　4 个疥螨分离株 COI 基因序列变异及组成

不同螨种按个体重复测序 3 次，各次测序结果均相同。采用 P_1 和 P_2 引物扩增出的 4 个疥螨分离株的 COI 基因序列无长度变异，分别为 787 bp 和 709 bp。经 DNAMAN5.0 分析后发现，P_1 扩增的 PCR 产物的第 1 位到第 48 位的碱基序列与 P_2 扩增的 PCR 产物的第 663 位到 709 位的碱基序列仅有 3 个碱基的差别，其余碱基完全相同(表 2)。因此，我们将 P_2 的上游引物(COF14)和 P_1 的下游引物(CytoR)组合进行扩增，成功扩增出长度为1 427 bp 的片段(不包括下游引物的序列)，序列见图 1。

比较 4 个疥螨分离株的 COI 基因序列，结果显示 1 427 个位点中无插入、缺失，共有 1 416 个保守位点，11 个变异位点，无简约信息位点。碱基组成上，A，T，C 和 G 的平均含量分别为 29.7%，43.3%，13.3% 和 13.7%(表 3)。A+T 含量较高，为 73%，其中密码子第 1 位点 A+T 含量为 60%，第 2 位点 A+T 含量最高，达 90.7%，第 3 位点 A+T 含量为 68.2%。第 2 位点的 G 和 C 含量明显偏低(G 和 C 算术平均值分别为 4.4% 和 4.9%)，而 T 的含量为最高，达到 51.8%。这表明密码子的碱基使用频率存在明显的偏向性。在氨基酸组成上，1 427 bp 的核苷酸序列共编码 475 个氨基酸，其中有 8 个氨基酸发生了变异。4 条核苷酸的替换仅有转换(转换值为 6)，无颠换(颠换值为 0)，其中 A-G 转换高于 T-C(转换值分别为 2 和 1)。碱基的转换主要发生在密码子第 2 位。

表 2　P1 扩增片段同 P2 扩增片段的重叠区域序列

Table 2　The overlapping domain of the amplification products using primers P_1 and P_2

引物 Primer	重叠区域 Overlapping domain	核苷酸序列 Nucleotide sequence(3′→5′)
P1	1 − 48	ATT T TTA TAT CAA CAT TTA TTT TGA TTT TTT GGA CAC CCA GAA GTT TA
P2	663 − 709	ATT TTA TAT CAA CAC TTA TTT TGA TTT TTT GGT CAC CCT GAA GTT TA

在两段 PCR 产物中重叠部分的不同碱基已加粗。The different bases of the overlapping domain in the two products are showed in bold.

表 3　4 个疥螨分离株 COI 基因碱基组成比较

Table 3　The nucleotide content of COI in four *Sarcoptes* isolates

分离株 Isolate	长度 Length(bp)	G (%)	C (%)	A (%)	T (%)
C1	1 427	13.7	13.2	29.6	43.4
C2	1 427	13.7	13.3	29.6	43.3
C3	1 427	13.7	13.3	29.7	43.3
C4	1 427	13.7	13.3	29.7	43.3

```
EU256388   GGTCAACAAATCATAAAGATATTGCAACTTTATATTTTATTTTTGGTATATGATCAGGGTTCTTAGGGGCTGGATTTAGT   80
EU256389   --------------------------------------------------------------------------------   80
EU256386   -------------------------------------------------------g-----t------------------   80
EU256387   --------------------------------------------------------------------------------   80

EU256388   ATGTTGATTCGATATCAATTATCTCAACCAATAGGAATTTCTATAAATTCTATATTTTATAATTCAGTTGTAACCGCCCA   160
EU256389   --------------------------------------------------------------------------------   160
EU256386   --------------------------------------------------------------------------------   160
EU256387   --------------------------------------------------------------------------------   160

EU256388   TGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTAATACCTATTATAATAGGAGGATTTGGAAATTTATTAATTCCTTTAATATTAG   240
EU256389   --------------------------------------------------------------------------------   240
EU256386   --------------------------------------------------------------------------------   240
EU256387   --------------------------------------------------------------------------------   240

EU256388   GCTCTGCTGATATAGCTTACCCTCGATTAAATAATATAAGTTTTTGGTTACTTCCACCATCTTTAACTTTATTACTAATT   320
EU256389   --------------------------------------------------------------------------------   320
EU256386   --------------------------------------------------------------------------------   320
EU256387   --------------------------------------------------------------------------------   320

EU256388   TCTTTATTGTGTGGAACTGGTAGAGGAACTGGCTGAACTATTTATCCTCCTTTATCTAGAATCACTTATCATTCAAATAT   400
EU256389   --------------------------------------------------------------------------------   400
EU256386   --------------------------------------------------------------------------------   400
EU256387   --------------------------------------------------------------------------------   400

EU256388   GTCTGTAGATTTTACAATTGTAAGATTACATATTGCTGGAATTTCTTCTATTTTAAGTTCTATCAATTTTATTGTAACTA   480
EU256389   --------------------------------------------------------------------------------   480
EU256386   --------------------------------------------------------------------------------   480
EU256387   ----------------------------------a---------------------------------------------   480

EU256388   TTTATAATATAAAAATAAAAGGGATAAGATGATCAAACTTAACTCTTTTTGCTTGATCTGTTTTATTAACCTCTTTTTTA   560
EU256389   --------------------------------------------------------------------------------   560
EU256386   --------------------------------------------------------------------------------   560
EU256387   ----------------------a---------------------------------------------------------   560

EU256388   TTAGTTTTCTCATTACCAGTATTAGCAGCGGCTTTAACAATACTATTAACAGATCGAAATTTAAGAACTTCATTTTTTGA   640
EU256389   --------------------------------------------------------------------------------   640
EU256386   --------------------------------------------------------------------------------   640
EU256387   --------------------------------------------------------------------------------   640

EU256388   TCCTATTGGAGGAGGTGATCCTATTTTATATCAACACTTATTTTGATTTTTTGGTCACCCTGAAGTTTACATTCTTATTA   720
EU256389   --------------------------------------------------------------------------------   720
EU256386   --------------------------------------------------------------------------------   720
EU256387   --------------------------------------------------------------------------------   720

EU256388   TTCCTGGATTTGGGATAATTTCTCATATTATTACTTATTCAAGTAATAAAAGAGAACCATTTGGATCTTTAGGTATAATT   800
EU256389   --------------------------------------------------------------------------------   800
EU256386   --------------------------------------------------------------------------------   800
EU256387   --------------------------------------------------------------------------------   800

EU256388   TATGCTATGATTTCTATTGCAACTTTAGGTTTTATTGTATGAGCTCATCATATATTTACTGTTGGATTAGATGTTGATAC   880
EU256389   --------------------------------------------------------------------------------   880
EU256386   --------------------------------------------------------------------------------   880
EU256387   --------------------------------------------------------------------------------   880

EU256388   TCGAGCTTATTTTACTTCAGCTACTATAATTATCGCTGTTCCTACGGGAGTAAAAATTTTTAGTTGATTATCTACAATAT   960
EU256389   --------------------------------------------------------------------------------   960
EU256386   --------------------------------------------------------------------------------   960
EU256387   --------------------------------------------------------------------------------   960

EU256388   TAGCAGGAAAATTAGATTTTAACCCTTCTATGTATTGAGCAATTGGCTTTGTGTTTCTATTTAGAATGGGAGGTCTTACA   1040
EU256389   --------------------------------------------------------------------------------   1040
EU256386   --------------------------------------------------------------------------------   1040
EU256387   -------------------------------------------------------------------------------g   1040

EU256388   GGTATTATTTTATCTAACTCTTCTTTAGATGTTAGATTACACGATACTTACTATGTTGTAGCTCACTTTCATTATGTTTT   1120
EU256389   --------------------------------------------------------------------------------   1120
EU256386   --------------------------------------------------------------------------------   1120
EU256387   --------------------------------c--------t-----------------------t--------------   1120

EU256388   ATCTATAGGTGCTGTTTTTGCTCTTATAGGGGGTTTTTCTTTTTGATATATAATGTTTACAGGTTATTTTTTAAAACCTT   1200
EU256389   --------------------------------------------------------------------------------   1200
EU256386   --------------------------------------------------------------------------------   1200
EU256387   ---------------------------g----------------------------------------------------   1200

EU256388   CTATAATAAAAAGACAATTTTGAACAATATTTATAGGAGTTAATATAACTTTTTTCCCTCAACATTTTTTAGGTTTAAGA   1280
EU256389   --------------------------------------------------------------------------------   1280
EU256386   --------------------------------------------------------------------------------   1280
EU256387   --------------------------------------------------------------------------------   1280

EU256388   GGTATACCTCGACGGTATTCTGATTATCCTGATAATTTCTCAACTTGAAATACTATTTCATCTTTAGGAACTATAATTAC   1360
EU256389   --------------------------------------------------------------------------------   1360
EU256386   --------------------------------------------------------------------------------   1360
EU256387   --------------------------------------------------------------------------------   1360

EU256388   AATATTCTCAATATTATTTTTTATGTATATTTTATGAGATTCATTATCAAAATATAAAATTATTTCA                1427
EU256389   -------------------------------------------------------------------                1427
EU256386   -------------------------------------------------------------------                1427
EU256387   -------------c----------------------------g------------------------                1427
```

图 1 4 个疥螨分离株的 COI 基因序列比较

Fig. 1 Comparison of COI gene sequences of four *Sarcoptes* isolates

序列号及相关信息见表 1，下同。GenBank accession no. and the related data are listed in Table 1. The same below.

2.2 疥螨分离株的 COI 基因序列同源性分析

将测定的 4 个疥螨分离株的 COI 序列同 GenBank 中登陆的疥螨虫株的 14 条 COI 序列对齐后，剪切两端多余序列。剪切后的对齐序列使用 MegAlign 软件分析序列的同源性显示：测定的 4 个疥螨株 COI 的同源性较高(99.1% ~100.0%)，其中以四川雅安、四川自贡和重庆永川的 3 个兔疥螨分离株间的同源性最高，均达 100.0%，而四川荥经的猪疥螨分离株与 3 个中国兔疥螨分离株的同源性稍低，均为 99.1%。14 个国外疥螨分离株 COI 基因片段的同源性为 92.2% ~99.9%，其中以来自巴拿马和澳大利亚的人疥螨分离株间的同源性最低(92.2% ~93.8%)。4 个中国疥螨分离株与 14 个国外疥螨分离株的 COI 基因同源性范围波动较大，为 92.2% ~99.6%，以与巴拿马人疥螨株的同源性最低(92.2% ~94.1%)，与澳大利亚人疥螨株及国外动物疥螨株的同源性较高(98.4% ~99.6%)(表 4)。

2.3 基于疥螨 COI 基因构建分子系统树

以微小牛蜱 *Boophilus microplus*(AH007623)为外群所构建的 NJ 树将本研究的全部内群分成 2 个群：A 群为一个混合群，包括来自于澳大利亚的人和不同地区各种动物的疥螨混合群；B 群由来自巴拿马的 3 个人疥螨分离株组成。A 群内的平均遗传距离(pairwise distance)为 0.010，B 群内的平均遗传距离为 0.013，A 群和 B 群间的平均遗传距离为 0.072。

表 4　18 株疥螨株间 COI 基因相似性百分数(上三角)和分歧度(下三角)

Table 4　The percent identity (above diagonal) and divergence (below diagonal) of COI genes between 18 *Sarcoptes* isolates

分离株 Isolate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1:EU256386	–	99.1	100.0	100.0	94.0	94.1	92.8	99.5	99.3	99.1	99.3	99.1	99.6	99.1	99.2	99.5	99.3	99.5
2:EU256387	0.9	–	99.1	99.1	93.4	93.6	92.2	98.8	98.7	98.4	98.7	98.4	98.9	98.4	98.5	99.1	98.7	98.8
3:EU256388	0.0	0.9	–	100.0	94.0	94.1	92.8	99.5	99.3	99.1	99.3	99.1	99.6	99.1	99.2	99.5	99.3	99.5
4:EU256389	0.0	0.9	0.0	–	94.0	94.1	92.8	99.5	99.3	99.1	99.3	99.1	99.6	99.1	99.2	99.5	99.3	99.5
5:AY493379	6.3	6.9	6.3	6.3	–	99.9	98.2	93.6	93.5	93.5	93.5	93.2	94.3	94.0	93.4	93.9	94.0	94.1
6:AY493380	6.2	6.8	6.2	6.2	0.1	–	98.3	93.8	93.6	93.6	93.6	93.4	94.4	94.1	93.5	94.0	94.1	94.3
7:AY493381	7.7	8.3	7.7	7.7	1.9	1.7	–	92.3	92.2	92.2	92.4	92.4	93.0	92.7	92.3	92.8	92.7	93.1
8:AY493382	0.5	1.2	0.5	0.5	6.7	6.6	8.2	–	99.9	99.3	99.6	99.3	99.3	98.9	99.5	99.2	99.1	99.2
9:AY493383	0.7	1.4	0.7	0.7	6.9	6.7	8.4	0.1	–	99.2	99.5	99.2	99.2	98.7	99.3	99.1	99.0	99.1
10:AY493384	0.9	1.6	0.9	0.9	6.9	6.7	8.4	0.7	0.8	–	99.2	99.0	99.0	98.7	99.1	98.8	98.7	98.8
11:AY493391	0.7	1.4	0.7	0.7	6.9	6.7	8.1	0.4	0.5	0.8	–	99.7	99.2	98.7	99.6	99.3	99.0	99.1
12:AY493392	0.9	1.6	0.9	0.9	7.2	7.0	8.1	0.7	0.8	1.1	0.3	–	99.0	98.4	99.3	99.1	98.7	98.8
13:AY493393	0.4	1.1	0.4	0.4	6.0	5.9	7.5	0.7	0.8	1.1	0.8	1.1	–	99.5	99.1	99.3	99.7	99.9
14:AY493394	0.9	1.6	0.9	0.9	6.3	6.2	7.8	1.2	1.3	1.3	1.3	1.6	0.5	–	98.6	98.8	99.2	99.3
15:AY493395	0.8	1.5	0.8	0.8	7.0	6.9	8.2	0.5	0.7	0.9	0.4	0.7	0.9	1.5	–	99.2	98.8	99.0
16:AY493396	0.5	0.9	0.5	0.5	6.5	6.3	7.6	0.8	0.9	1.2	0.7	0.9	0.7	1.2	0.8	–	99.1	99.2
17:AY493397	0.7	1.4	0.7	0.7	6.3	6.2	7.8	0.9	1.1	1.3	1.1	1.3	0.3	0.8	1.2	0.9	–	99.6
18:AY493398	0.5	1.2	0.5	0.5	6.2	6.0	7.3	0.8	0.9	1.2	0.9	1.2	0.1	0.7	1.1	0.8	0.4	–

3 讨论

疥螨宿主数量繁多，已报道的宿主包括牛、山羊、绵羊、猪、马、兔、猫等家养动物，以及美洲野猪、羚羊、小熊猫、苏门羚、豚鼠和野犬等野生动物(曾智勇等，2004)。分离自不同宿主和不同地理来源的疥螨由于对不同微环境具有很强的适应性，并通过不同的表型表现出来，会观察到形态上的一些变异(Fain，1968)，按传统分类方法确定的疥螨属的种间分类地位一直备受争议(Kutzer，1970)。

传统分类方法主要根据螨虫的形态差异、宿主

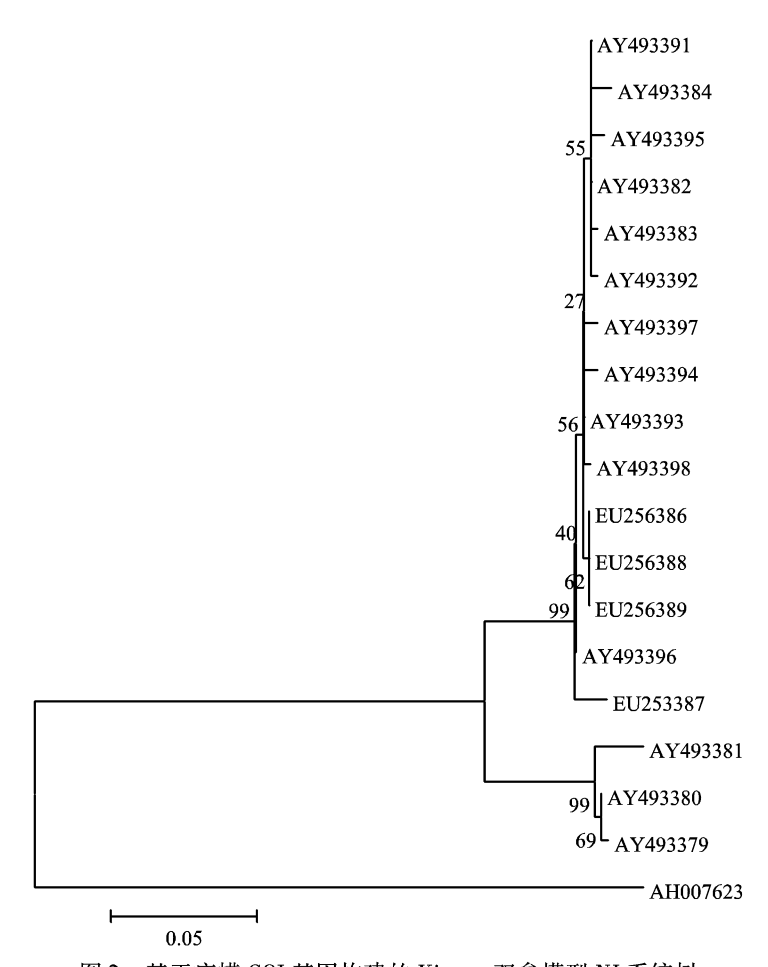


图 2　基于疥螨 COI 基因构建的 Kimura 双参模型 NJ 系统树

Fig. 2　NJ trees of *Sarcoptes* species group based on COI gene using all substitutions

支上的数值为 1 000 次重复抽样获得的置信度。Number beyond a branch is the percentage bootstrap value of 1 000 replications.

特异性的有无。不同来源的疥螨形态差异主要集中在虫体的大小、雌螨的背侧鳞状刺形态和数量及腹外侧刺的有无（Fain, 1968; Pence *et al.*, 1975; Zahler *et al.*, 1999）。Fain(1968)对各种宿主的疥螨分离株进行形态观察后发现，所有疥螨分离株形态上与人疥螨极为相似，并无分类学价值，并认为疥螨只有一个种。Pence 等(1975)对北美的野生犬(canid)疥螨虫株的刚毛和棘进行观察后也认为疥螨只有一个种。而 Kutzer(1970)对来自不同宿主的疥螨进行形态观察后认为疥螨具有不同的种。Zahler 等(1999)探讨了来自德国、比利时、西班牙、美国等 10 个国家的猪、牛、犬、银狐、红狐、猞猁、狸、袋熊、单峰骆驼、小羚羊的 23 个疥螨株 *Sarcoptes* 的亲缘关系，根据螨虫背部鳞片状皮刺和腹外侧刺的长度及数量认为这些不同宿主体上的疥螨株为一个种。另外，从实验室的交互感染和自然感染过程来看，有些疥螨分离株具有宿主特异性。Arlian(1989)曾试图将分离自犬的疥螨感染小鼠、豚鼠、猪、牛、猫、山羊和绵羊均未成功；分离自人和猪的疥螨不能感染新西兰兔，而分离自犬的疥螨却能感染新西兰兔（Arlian *et al.*, 1984; Arlian *et al.*, 1988）；分离自绵羊的疥螨除能感染山羊（Abu-Samra *et al.*, 1984），还能感染单峰骆驼(dromedary camels)(Nayel and Abu-Samra, 1986)；分离自山羊的疥螨能感染驴(Abu-Samra *et al.*, 1985)。但到目前为止，尚未对分离自各种易感宿主的所有疥螨分离株进行形态学观察和比较，同时对分离自不同动物的疥螨分离株间的交互感染和交互杂交也尚未进行。因此，就目前的传统分类学研究结果尚不能对疥螨的分类地位进行准确的定位，还有待于更详细资料的进一步补充。

由于疥螨个体较小（<0.4 mm），在具有临床症状的宿主体也不容易发现虫体，且其不能进行体外培养，只能通过动物体不断传代繁殖。因此，要

想获得足够的螨虫病原进行研究较为困难，使得疥螨的分子分类学研究较为滞后，直至 1997 年，Walton 等(1997)才首次对疥螨基因进行了报道。Zahler 等(1999)探讨了来自德国、比利时、西班牙、美国等 10 个国家的猪、牛、犬、银狐、红狐、猞猁、狸、袋熊、单峰骆驼、小羚羊的 23 个疥螨株 *Sarcoptes* 的亲缘关系，经 ITS-2 序列分析发现，23 个疥螨株间的同源性范围较高(97.3% ~99.8%)，认为疥螨只有一个种，进一步支持了他在形态学方面观察的结果；我们利用疥螨的 ITS-2 基因分析也发现，来自中国的兔和猪疥螨分离株与国外的动物疥螨分离株属于同一个种(Gu and Yang, 2008)。Walton 等(1999)在应用微卫星标记对人和犬疥螨的同源性研究时，共发现了 70 种遗传突变因子，并认为疥螨的这些遗传因子的突变是由特定的宿主决定的，而不是由地理环境所决定，研究认为犬疥螨和人疥螨分属于不同的种。后来，一些学者利用 16S rRNA 及 12S rRNA 等基因分析方法对疥螨株 *Sarcoptes* 的分类进行研究，结果表明这些遗传标记可区分来自不同地理位置的疥螨株，但不能区分不同宿主体上的疥螨(Berrilli *et al.*, 2002; Cruickshank, 2002; Skerratt *et al.*, 2002; 古小彬等, 2007a, 2007b)。由于受到疥螨病原材料采集的限制，至今为止采用分子生物学方法对疥螨进行分类的研究还较少，而且在已报道的分子分类研究的结果也不完全相同(Walton *et al.*, 2004)。因此，用分子生物学方法来解决疥螨属内的确切物种数，依然需要更多的基因序列资料。

从碱基组成来看，4 株中国疥螨株的 A + T 含量同 Walton 等(2004)报道的疥螨株的含量相同，均为 73%，同以前报道的疥螨和其他螨虫的碱基组成均相似(Navajas *et al.*, 1996; Zahler *et al.*, 1999; Skerratt *et al.*, 2002; Walton *et al.*, 2004)。同源性分析结果显示，中国疥螨株与澳大利亚人疥螨株、国外动物疥螨株的同源性范围较高，为 98.4% ~ 99.6%，分歧度为 0.4 ~ 1.6；而它们与 3 个巴拿马人疥螨分离株的同源性均较低(92.2% ~94.1%)，分歧度为 6.2 ~ 8.3。在构建的 NJ 树中，4 个中国疥螨株同澳大利亚人疥螨株、国外动物疥螨株聚类成一个支系(A 群)，且群内平均遗传距离(0.010)较小，具有较近的亲缘关系；而巴拿马人疥螨株形成另一支系(B 群)，群内的平均遗传距离(0.013)也较小。而 A 群和 B 群间的平均遗传距离(0.072)稍大。从碱基组成、同源性分析、遗传距离和构建的进化树来看，我们认为 4 个中国疥螨株与澳大利亚人疥螨株、国外动物疥螨株应属于同一个种；而它们与巴拿马人疥螨株确实存在一定的差异，但这种差异是虫株间或种间差异，还有待于进一步的研究。

参 考 文 献 (References)

Abu-Samra MT, Ali BH, Musa BE, Ibrahim KEE, 1985. Experimental infection of the domestic donkey (*Equus asinus asinus*) with a goat strain of *Sarcoptes scabiei*, and treatment with invermectin. *Acta Trop.*, 42 (3): 217 –224.

Abu-Samra MT, Ibrahim KE, Aziz MA, 1984. Experimental infection of goats with *Sarcoptes scabiei* var. *ovis*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 78(1): 55 –61.

Arilian LG, Runyan RA, Estes SA, 1984. Cross-infectivity of *Sarcoptes scabiei*. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 10(6): 979 –986.

Arilian LG, Vyzenski-Mother DL, Cordova D, 1988. Host specificity of *S. scabiei* var. *canis* and the role of host odor. *J. Med. Entomol.*, 25(1): 52 –56.

Arlian LG, Vyzenski-Mother DL, Pole MJ, 1989. Survival of adults and developmental stages of *Sarcoptes scabiei* var. *canis* when off the host. *Exp. Appl. Acarol.*, 6(3): 181 –187.

Berrilli F, Amelio S, Rossi L, 2002. Ribosomal and mitochondrial DNA sequence variation in *Sarcoptes* mites from different hosts and geographical regions. *Parasitol. Res.*, 88(8): 772 –777.

Cruickshank RH, 2002. Molecular markers for the phylogenetics of mites and ticks. *Syst. Appl. Acarol.*, 7: 3 –14.

Fain A, 1968. Étude de la variabilité de *Sarcoptes scabiei* avec une revision des Sarcoptidae. *Acta Zool. Pathol. Antverp.*, 47: 1 –96.

Fain A, 1978. Epidemiological problems of scabies. *Int. J. Dermatol.*, 17(1): 20 –30.

Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R, 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, 3(5): 294 –299.

Gu XB, Yang GY, 2008. A study on the genetic relationship of mites in the genus *Sarcoptes* (Acari: Sarcoptidae) in China. *Int. J. Acarol.*, 34(2): 183 –190.

Gu XB, Yang GY, Fang CL, Hao GY, Wu KB, 2007a. DNA molecular markers clarified the taxonomic status of mites from mammals and humans. *China Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 34 (2): 64 –66. [古小彬, 杨光友, 房春林, 郝桂英, 吴开波, 2007a. 分子标记基因在动物寄生螨虫基因差异研究中的应用. 中国畜牧兽医, 34(2): 64 –66]

Gu XB, Yang GY, Hao GY, 2007b. Advance in immunology and molecular biology of *Sarcoptes*. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 43(8): 62 –64. [古小彬, 杨光友, 郝桂英, 2007b. 疥螨的免疫学与分子生物学研究进展. 中国兽医杂志, 43(8): 62 –64]

Kutzer E, 1970. *Sarcoptes*-Milben and Sarcoptesr äude der Haustiere.

Angew. Parasitol., 11(Suppl.): 1 -22.

Lunt DH, Zhang DX, Szymura JM, Hewitt GM, 1996. The insect cytochrome oxidase I gene: Evolutionary patterns and conserved primers for phylogenetic studies. *Insect Mol. Biol.*, 5(3): 153 -165.

Navajas M, Fournier D, Lagneik Gutierrez J, Boursot P, 1996. Mitochondrial COI sequences in mites: Evidence for variations in base composition. *Insect Mol. Biol.*, 5(4): 281 -285.

Nayel NM, Abu-Samra MT, 1986. Experimental infection of the one-humped camel (Camelus dromedarius) with *Sarcoptes scabiei* var. *camelii* and *S. scabiei* var. *ovis*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 80: 553 -561.

Pence DB, Casto SD, Samuel WM, 1975. Variation in the chaetotaxy and denticulation of *Sarcoptes scabiei* (Acarina: Sarcoptidae) from wild canids. *Acarologia*, 17(1): 160 -165.

Skerratt LF, Campbell NJH, Murrell A, Walton S, Kem PD, Barker SC, 2002. The mitochondrial 12S gene is a suitable marker of populations of *Sarcoptes scabiei* from wombats, dogs and humans in Australia. *Parasitol. Res.*, 88(4): 376 -379.

Walton SF, Choy L, Bonson A, Valle A, McBroom J, Taplin D, Arlian L, Mathews JD, Currie B, Kem PDJ, 1999. Genetically distinct dog-derived and human-derived *Sarcoptes scabiei* in scabies-endemic communities in northern Australia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 61(4): 542 -547.

Walton SF, Currie BJ, Kem PDJ, 1997. A DNA fingerprinting system for the ectoparasite *Sarcoptes scabiei*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 85(2): 187 -196.

Walton SF, Dougall A, Pizzutto S, Holt D, Taplin D, Arlian LG, Morgan M, Currie B, Kem PDJ, 2004. Genetic epidemiology of *Sarcoptes scabiei* (Acari: Sarcoptidae) in northern Australia. *Int. J. Parasitol.*, 34(7): 839 -849.

Zahler M, Essig A, Gothe R, Rinder H, 1999. Molecular analyses suggest monospecificity of the genus *Sarcoptes* (Acari: Sarcoptidae). *Int. J. Parasitol.*, 29(5): 759 -766.

Zeng ZY, Yang GY, Liang HY, 2004. Advance in *Sarcoptes* and animal sarcoptic acariasis. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 11(40): 36 -39. [曾智勇, 杨光友, 梁海英, 2004. 疥螨与疥螨病研究进展. 中国兽医杂志, 11(40): 36 -39]

（责任编辑：袁德成）